

삼지구엽초의 부위별 추출물에 따른 항산화 활성

이성현* · 장미란* · 김건희

덕성여자대학교 식물자원연구소

Antioxidative Effects of Extracts from Different Parts of *Epimedium koreanum* Nakai

Sung-hyun Lee*, Miran Jang*, and Gun-Hee Kim

Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University

ABSTRACT This study was conducted to investigate the antioxidant activities of 70% ethanol extracts from different parts (root, stem, and leaf) of *Epimedium koreanum* Nakai. Ethanol extracts from the three parts of *Epimedium koreanum* Nakai were assessed for total phenolic content, total flavonoid content, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity, myoglobin protective ratio, and ferric reducing antioxidant power (FRAP). Root part showed the highest total phenolic content (2.468±0.017 mg chlorogenic acid equivalent/g) and total flavonoid content (2.071±0.002 mg quercetin equivalent/g). Leaf part showed the strongest radical scavenging activities (DPPH radical; 80%, myoglobin protective ratio; 90% and FRAP; 98.7% at 20 mg/mL). Root part showed the highest ABTS radical scavenging at 1 mg/mL. Therefore, the results of the antioxidant activity test were correlated with total phenolic and flavonoid content values. Thus, *Epimedium koreanum* Nakai has great potential as a natural source for human health.

Key words: *Epimedium koreanum* Nakai, antioxidant, phenol, radical scavenging activity, myoglobin protective

서론

현대사회는 지속적인 경제성장과 더불어 생활수준이 향상되고 있으나 복잡해지는 사회에 스트레스와 식생활 불균형으로 인하여 다양한 질병이 증가하는 추세이며 건강기능식품을 통하여 이를 예방하고 관리하기 위한 수요가 증가하고 있는 추세이다(1). 인간을 비롯한 생물체들은 대사과정 중에 superoxide radical, hydroxyl radical, peroxy radical, hydrogen peroxide 등과 같은 활성산소종(ROS)을 생성하게 되며 이들의 지속적인 생성 및 과발현은 DNA 손상, 암, 심장질환 등 심각한 질병을 일으킬 뿐만 아니라 노화의 원인이 되는데, 이러한 ROS를 제거하는 데 관여하는 항산화제에 관심이 집중되고 있다(2,3). 이로 인해 효과가 우수한 butylated hydroxytoluene(BHT), butylated hydroxyanisole(BHA)과 같은 합성 항산화제가 사용되고 있으나(4) 이들 합성 항산화제의 지속적인 섭취로 인한 변이원성과 독성이 지적되고 있다(5,6). 따라서 산화 억제 효과가 뛰어나며 안전하면서 경제적인 항산화제를 천연물로부터 탐색하려는

연구가 전 세계적으로 진행 중이다(7,8). 안전성 및 기능성이 보장된 천연 항산화제로는 quercetin, kaempferol, naringin과 같은 플라보노이드류, catechin과 같은 탄닌류, chlorogenic acid, gallic acid, caffeic acid 등의 페놀산, vanillin, curcumin 같은 향신료 및 비타민 C, 비타민 E 등의 비타민류 등이 보고되었다(9,10).

삼지구엽초(*Epimedium koreanum* Nakai)는 매자나무과에 속하고 주로 경기, 강원 지역을 중심으로 심산지역, 산지계곡 및 소림의 그늘에 자생하며(11), 초장은 30 cm 내외로 줄기에 가지가 세 개로 나며 1가지에 3개의 잎이 달려 있다고 하여 삼지(三枝)구엽(九葉)초라 한다(12). 삼지구엽초에는 141종의 flavonoid, 31종 lignin, 12종 ionones, 9종 phenol glycoside, 6종 phenylethanoid glycosides, 5종 sesquiterpenes 등 260여종의 생리활성 성분이 보고되고 있다(13). 주요성분으로는 플라보노이드 배당체로서 icariin, epimedin A, B, C 등이 있으며 알칼로이드로 magnoflorine 등이 함유되어 있다(14,15). 그중 icariin은 삼지구엽초의 주요성분으로 알려져 있는 플라보노이드로 호르몬 조절(16), 면역(17), 항암(18), 항산화(19) 등과 같은 생리활성에 작용을 한다고 보고되어 있다. 삼지구엽초는 다양하게 자생하는 이용성이 높은 식물임에도 불구하고 그 기능에 대한 연구가 많지 않은 상황이다(20). 특히 2014년 삼지구엽초의 지상부는 침출차, 주류에 제한적으로 식품원료로 인

Received 14 September 2015; Accepted 6 January 2016

Corresponding author: Gun-Hee Kim, Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University, Seoul 01369, Korea
E-mail: ghkim@duksung.ac.kr, Phone: +82-2-901-8496

*These authors contributed equally to this work.

정되면서 연구의 필요성이 대두되고 있다. 따라서 본 연구에서는 삼지구엽초 부위별 추출물의 항산화 활성과 관련이 있는 총페놀 함량, 총플라보노이드 함량을 조사하였다. 또한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능, 미오글로빈 보호 효과 및 FRAP 방법을 통해 항산화능을 평가하여 삼지구엽초의 천연 항산화 소재로서의 이용 가능성을 알아보기 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 삼지구엽초(*Epimedium koreanum* Nakai)는 2015년 3월 서울 경동시장에서 판매되고 있는 강원도 홍천지역의 건조된 것을 구입하여 실험에 사용하였다. 삼지구엽초는 잎, 줄기, 뿌리 세 부분으로 분리한 후 분쇄기(FM-681, HANIL Co., Changwon, Korea)를 이용하여 분말로 조제를 한 다음 각각 시료 무게 20 g에 중량 대비 10배량의 200 mL의 70% 에탄올을 넣고, 50°C에 150 rpm으로 진탕배양기(BF-30SI, Biofree Co., Gyeonggi-do, Korea)에 24시간 동안 추출한 후에 여과과정을 거친 다음 감압농축기(EYELA N-1000, Riakikiai Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 농축하였다.

총페놀 함량 측정(total phenolic content, TPC)

본 연구의 총페놀 함량 측정은 각 추출물 70 µL에 2 N Folin-Ciocalteu 용액을 70 µL 가하여 혼합한 다음 3분간 반응시킨 후 2% Na₂CO₃ 70 µL를 첨가하여 1시간 동안 반응시키고 760 nm에서 흡광도를 측정 후 건조 시료 g당 총페놀 함량으로 환산하였다. 이때 총페놀 함량은 표준물질로 chlorogenic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

총플라보노이드 함량 측정(total flavonoid content, TFC)

총플라보노이드 함량은 각 추출물 100 µL에 2% aluminium chloride hexahydrate를 100 µL 첨가하여 실온에서 15분 동안 반응시킨 후 430 nm에서 흡광도를 측정하여 건조 시료 g당 총플라보노이드 함량으로 환산하였다. 이때 총플라보노이드 함량은 quercetin(Sigma-Aldrich Co.)을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

DPPH 라디칼 소거 활성

각 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Ramos 등(21)이 사용한 DPPH법을 본 시료에 맞게 변형하여 측정하였다. 농도별 각 추출물과 0.1 mM DPPH 용액을 30분 동안 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 이용하여 측정하였다. 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 제시하였다. 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였으며 아래의 식으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거 활성(\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시료첨가구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도

ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼 소거 활성은 Re 등(22)의 방법을 본 시료에 맞게 변형하여 측정하였다. ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 혼합하여 24시간 동안 암소에 반응시켜 stock solution을 제조하였다. 이후 735 nm에서 흡광도 값이 1.4±0.05가 나오도록 희석한 ABTS 용액에 농도별 각 추출물을 가하여 10분간 반응시킨 후 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였으며 아래의 식으로부터 ABTS 라디칼 소거 활성을 계산하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거 활성(\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시료첨가구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도

미오글로빈 보호 효과

미오글로빈 보호 효과는 Terashima 등(23)의 방법을 이용하여 라디칼 소거능을 확인하는 방법으로 본 시료에 맞게 변형하여 측정하였다. Myoglobin을 PBS buffer(pH 7.2)에 0.5 mg/mL의 농도로 용해시켜 myoglobin solution을 제조한다. ONOO⁻(peroxynitrite)를 20 mM NaOH에 녹인 후 농도별 각 추출물 5 µL에 peroxynitrite solution 15 µL를 가하여 실온에서 1분 30초 동안 반응시킨 다음, myoglobin solution 160 µL를 넣은 후 5분간 반응시킨다. 409 nm에서 흡광도를 이용하여 측정하고, 아래의 식으로부터 myoglobin 보호 효과를 계산하였다.

미오글로빈 보호 효과(%)=

$$\left(1 - \frac{\text{Abs}^0 - \text{Abs}^{\text{rad}} (\text{with antioxidant})}{\text{Abs}^0 - \text{Abs}^{\text{rad}} (\text{without antioxidant})}\right) \times 100$$

Abs⁰: myoglobin의 흡광도(control)

Abs^{rad} (without antioxidant): ROS의 반응 흡광도

Abs^{rad} (with antioxidant): ROS와 antioxidant의 반응 흡광도

Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP는 Benzie와 Strain(24)이 개발한 방법으로 본 시료에 맞게 변형하여 측정하였다. 0.3 M sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine(TPTZ) solution 그리고 20 mM FeCl₃ solution을 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켜 만든 FRAP reagent를 준비하였다. FRAP reagent 150 µL에 농도별 각 추출물 50 µL를 혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

모든 실험의 결과는 실험은 3회 반복 수행하여 평균값과 표준편차를 제시하였다. 또한 SPSS(Statistical Package for Social Science, ver. 19, IBM, Chicago, IL, USA)를 이용하여 ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test로 각 군의 평균 차이에 대하여 $P < 0.05$ 수준에서 유의성 여부를 검증하였다.

결과 및 고찰

총페놀 및 플라보노이드 함량

페놀 화합물은 phenolic hydroxyl 기를 가지고 있는 화합물로 플라보노이드, 안토시아닌, 탄닌, 카테킨 등을 총칭하며 식물체에 널리 분포하고 있다(25,26). 플라보노이드는 페놀 화합물 범주 안에 속하고 식물체의 잎, 꽃, 과실, 줄기 및 뿌리 거의 모든 부분에 존재하며 ROS를 제거하는 항산화 효과를 비롯하여 항바이러스, 항염증, 항암 등과 같은 생리활성에 효과가 있는 것으로 보고되어 있다(25,27). 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물 페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 통해 항산화 활성의 간접적인 지표로 이용되고 있다.

삼지구엽초 부위(뿌리, 줄기, 잎)에 따라 70% 에탄올로 추출한 다음 총페놀 함량과 총플라보노이드 함량을 확인하였으며 그 결과는 Table 1과 같다. 총페놀 함량은 건조 분말 시료 g당 chlorogenic acid의 등량 값으로 환산하여 나타냈고 그 결과 뿌리(2.468 mg), 잎(2.307 mg), 줄기(2.277 mg) 순으로 높은 함량을 나타냈으며($P < 0.05$), 총플라보노이드 함량은 건조 분말시료 g당 quercetin을 등량 값으로 측정하여 환산한 결과 뿌리(2.071 mg), 잎(1.875 mg), 줄기(0.616 mg) 순으로 높은 함량이 나타났다($P < 0.05$). 삼지구엽초의 경우 플라보노이드의 함량과 페놀성 화합물의 함량 차이가 크지 않았는데, 이는 삼지구엽초에 함유된 페놀성 화합물의 대부분이 플라보노이드 때문인 것으로 사료된다. 다양한 분석 연구를 통하여 삼지구엽초의 페놀성 화합물로는 플라보노이드와 퀴닌산(quinic acid) 유도체들이 보고되었으나 플라보노이드 외 페놀성 화합물은 미량이고 기능성을 나타내며 다량 함유되어 있는 지표 활성 성분은 icariin 및 epidemin과 같은 플라보노이드 배당체로 보고되었다(28).

Choi와 Ahn(29)의 연구 결과 오가피의 부위별 에탄올 추

Table 1. Total phenol and flavonoid contents of extracts from each part of *Epimedium koreanum* Nakai

Parts	Total phenol contents (mg CAE/g dry weight)	Total flavonoid contents (mg QE/g dry weight)
Root	2.468±0.017 ^{a1)2)}	2.071±0.002 ^a
Stem	2.277±0.001 ^c	0.616±0.005 ^c
Leaf	2.307±0.008 ^b	1.875±0.003 ^b

¹⁾Each value represented mean±SD (n=3).

²⁾Values within each column followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$).

출물에서 뿌리>잎>줄기 순으로 페놀 화합물 함량이 높았으며, Park(30)의 해당화 추출물에서 뿌리 페놀 화합물 함량이 가장 높았던 결과와 유사하였다. 본 연구에 사용된 삼지구엽초에서도 플라보노이드 및 페놀성 화합물의 함량이 높았던 부위의 추출물이 항산화 활성에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 에탄올 용액에서 짙은 보라색을 띠다가 항산화 활성을 갖는 물질을 만나면 노란색으로 탈색되며 흡광도가 감소되는 지표로, 항산화 활성을 나타내는 척도로 이용된다(8). DPPH 라디칼 소거 활성은 비교적 간단하여 많이 사용하는 방법으로 라디칼 소거 활성 측정 시 많이 이용되며 *in vitro* 세포수준 및 *in vivo* 항산화 활성과도 연관성이 높다는 장점이 있다(31).

삼지구엽초의 부위별 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성 결과는 Fig. 1과 같다. 부위별 추출물은 모두 농도가 증가할수록 항산화 효과가 증대된다고 보고된 Noh 등(32)의 연구결과와 마찬가지로 모두 농도 의존적으로 라디칼 소거 활성이 증가하였으며, 잎에서 DPPH 라디칼 소거 활성이 70%로 우수하게 나타났다. Chung(33)은 부위별 파피 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성의 경우 페놀 함량이 높았던 잎 추출물이 뿌리, 줄기에 비하여 항산화 활성이 가장 우수하다고 보고하였으며, Hwang 등(26)은 삼채의 잎이 인경, 뿌리보다 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 가진다고 보고하였는데 본 연구 결과와 유사하였다.

한편 Seo 등(34)은 삼지구엽초와 같은 매자나무과 식물로 알려진 남천 분획 추출물 중 ethyl acetate 분획물 1.0 mg/mL에서 95% 이상의 DPPH 라디칼 소거능이 있으며 이는 대조군인 ascorbic acid의 활성과 유사하게 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다. 이는 ethyl acetate 분획물에서

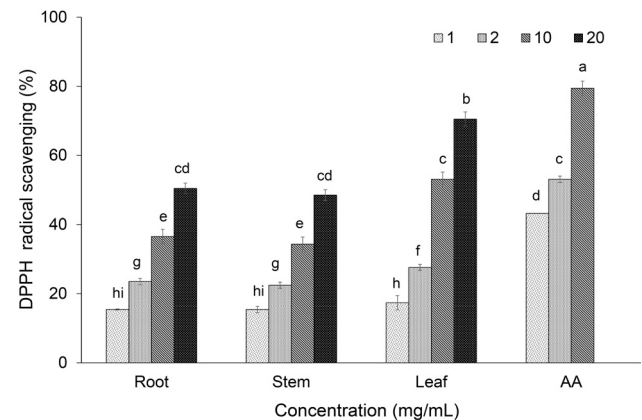


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of extracts from each part of *Epimedium koreanum* Nakai. Each value represented mean±SD (n=3). Values followed by different letters (a-i) are significantly different ($P < 0.05$). AA: ascorbic acid.

유효성분이 많이 추출되었을 것으로 사료된다. 이는 삼지구엽초를 분획하여 추출한 Kim 등(12)의 연구에서도 ethyl acetate 분획물에서 DPPH 라디칼 소거 활성이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 또한 ethyl acetate 분획물에서 분리한 icariin의 항산화 활성이 ascorbic acid보다 다소 높은 항산화 활성을 나타낸다는 보고(12)에 따라 ethyl acetate 분획물에서 항산화 기능 관련 플라보노이드 등의 페놀성 화합물 성분이 추출이 잘 되었을 것으로 사료된다.

ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼 소거 활성법은 ABTS와 potassium persulfate가 반응하여 생성된 청록색이 항산화 물질과 만나 탈색되는 원리를 이용하여 측정하는 방법이다. ABTS 라디칼 소거능은 소수성 시료에 적합한 DPPH 측정법과 달리 소수성과 친수성 시료의 소거 활성에 모두 측정할 수 있어 DPPH 라디칼 소거법보다 넓은 범위에서 적용할 수 있다(35).

삼지구엽초 부위별 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성 결과는 Fig. 2와 같다. ABTS 라디칼 소거 활성은 1 mg/mL에서 뿌리>줄기>잎 순으로 활성이 높았으며 91.93%, 84.74%, 82.40%로 측정되었다($P<0.05$). DPPH 라디칼 소거능에 비하여 ABTS 라디칼 소거능이 더 높게 나타났는데 이는 두 라디칼의 특성과 반응하는 추출물 특성에 의해 라디칼을 소거하는 능력의 차이가 생겼을 것으로 판단되며(36) ABTS 방법은 수소공여 항산화제(hydrogen-donating antioxidant)와 연쇄절단형 항산화제(chain-breaking antioxidant)를 모두 측정할 수 있는 방법이고 친수성과 소수성에 모두 적용이 가능하여 DPPH 라디칼 소거 활성보다 더 민감하게 나타난 것으로 사료된다(37).

삼지구엽초 추출물의 경우 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성을 통하여 잎과 뿌리에서 항산화 효과가 우수한 것을 확인하였으며 이런 효과는 생체 내에서도 항산화 활성에 효

과가 있을 것으로 기대가 된다. 하지만 DPPH 및 ABTS 라디칼의 경우 실제로 인체 내에 존재하지 않는 라디칼로 생리 활성의 의미가 명확하다고 할 수 없다(38). 따라서 생체 라디칼의 반응을 간접적으로 확인할 수 있는 생체 내의 미오글로빈을 이용하여 항산화 활성을 확인해 보았다.

미오글로빈 보호 효과

미오글로빈 보호 효과 실험은 항산화제의 미오글로빈 보호 효과 정도를 측정하는 방법으로 생체 내에 존재하지 않는 DPPH 및 ABTS와 달리 생체 내에 존재하는 ONOO⁻ 라디칼로 인한 미오글로빈의 구조 변화로 미오글로빈이 탈색되는 원리에서 착안된 방법이다. 기존의 DPPH 및 ABTS와 같은 라디칼 소거 활성 실험은 비교적 간단하면서 실제 항산화 활성과도 연관이 높다는 장점을 가지고 있지만 생체 내 활성의 의미는 명확하지 않다. 반면 미오글로빈 보호 효과를 이용한 방법은 생체 내에 존재하는 미오글로빈을 이용하여 ONOO⁻ 라디칼의 효과를 간접적으로 재현한다는 장점을 가지고 있다(39).

삼지구엽초 부위별 추출물의 미오글로빈 보호 효과 정도를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 그 결과 부위별 추출물 잎, 뿌리, 줄기에서 97.43%, 92.41%, 67.3% 순으로 잎과 뿌리에서 통계적으로 가장 높은 미오글로빈 보호 효과를 나타냈으며($P<0.05$), 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid 보다 우수한 보호 효과를 나타내었다. 이는 식물체 내의 플라보노이드와 같은 페놀성 화합물의 함량이 생체 ONOO⁻ 라디칼로 인한 미오글로빈을 보호하는 데 상관관계가 있을 것으로 사료된다.

또한 An 등(40)의 곰취의 조리 방법에 따른 미오글로빈 보호 효과를 이용한 항산화 활성을 측정된 연구에서 DPPH 라디칼 소거 활성보다 ONOO⁻ 라디칼을 보호하는 효과가 높았던 결과와 유사하게 나타났다. 이를 통하여 삼지구엽초의 잎과 뿌리 추출물이 생체 내에서 라디칼 소거 활성이 있

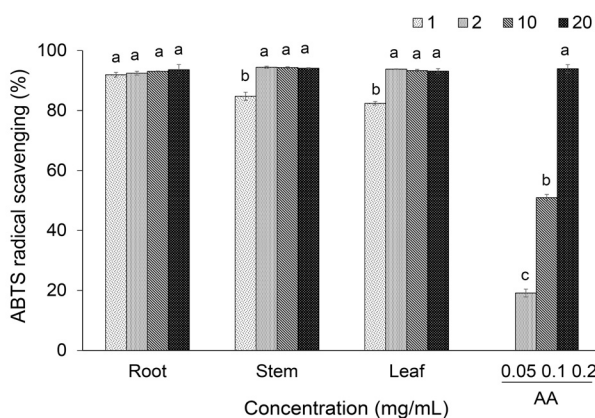


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of extracts from each part of *Epimedium koreanum* Nakai. Each value represented mean \pm SD (n=3). Values within each part followed by different letters (a-c) are significantly different ($P<0.05$). AA: ascorbic acid.

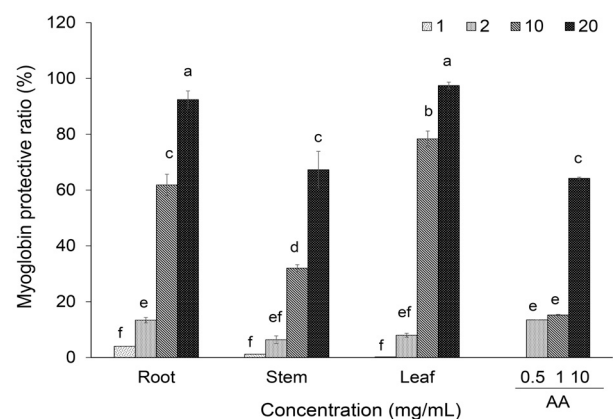


Fig. 3. Myoglobin protective ratio of extracts from each part of *Epimedium koreanum* Nakai. Each value represented mean \pm SD (n=3). Values followed by different letters (a-f) are significantly different ($P<0.05$). AA: ascorbic acid.

는 것을 간접적으로 확인하였다. 다만 추후 연구에서는 미오글로빈 보호 효과에서 사용되는 생체 내 라디칼의 종류를 AAPH, OH, CLO 및 NO 등으로 더욱 다양하게 확장하여 효과를 검증할 필요가 있을 것이다.

FRAP

FRAP법은 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine(Fe^{3+} -TPTZ) 복합체가 파란색의 ferrous tripyridyltriazine(Fe^{2+} -TPTZ)으로 환원되면서 발색되는 원리이다. 따라서 흡광도 수치가 그 시료의 환원력을 나타내주기 때문에 발색되는 정도가 높을수록 높은 환원력을 가진다. 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안된 방법으로 페놀 함량과 FRAP 값으로 측정된 항산화 효과와 높은 상관관계를 나타내어 식품의 항산화 효과를 측정하는 데 유용한 방법으로 사용되고 있다(41).

삼지구엽초 부위별 추출물의 FRAP의 흡광도를 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 그 결과 부위별 추출물 뿌리, 잎, 줄기 모두 농도 의존적으로 활성이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 부위별 추출물은 잎에서 환원력이 높은 것을 확인할 수 있었으며 부위에 따라 유의적 차이가 있는 것을 확인하였다($P < 0.05$). 이러한 측정 경향은 DPPH 라디칼 소거 활성 및 미오글로빈 보호 효과와 경향이 유사하였다.

Rice-Evans 등(42)에 따르면 식물에 포함되어 있는 다양한 플라보노이드류의 페놀성 화합물이 산화 및 환원력에 영향을 미친다고 보고하였다. 따라서 삼지구엽초 부위별 추출물의 FRAP는 플라보노이드의 함량에 영향을 받았을 것으로 사료된다. 본 연구에서 삼지구엽초 추출물이 라디칼 소거 능력만 아니라 철 이온의 환원에도 탁월한 효과가 있는 것으로 확인되어 삼지구엽초는 탁월한 항산화 소재로 고려된다. 추후 연구에서는 삼지구엽초 추출물에 함유된 플라보노이드 등의 페놀성 화합물의 규명이 필요하며 이들 물질의 생체 내 항산화 활성에 대한 접근을 위하여 세포 내 라디칼 소거

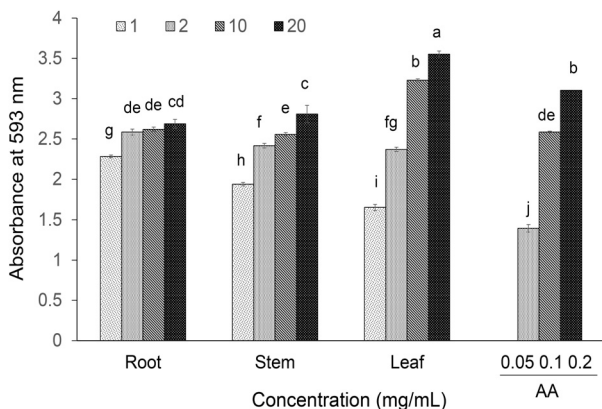


Fig. 4. Ferric reducing antioxidant power of extracts from each part of *Epimedium koreanum* Nakai. Each value represented mean±SD (n=3). Values followed by different letters (a-j) are significantly different ($P < 0.05$). AA: ascorbic acid.

에 관여하는 항산화 효소 발현 양 및 세포 내 ROS 생성량 변화 등의 분자생물학적인 연구가 이어져야 할 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 삼지구엽초의 뿌리, 줄기, 잎의 부위별 항산화 활성을 알아보기 위하여 각 부위를 70% 에탄올 용액을 이용하여 얻은 추출물의 총페놀 함량, 총플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거 활성, ABTS 라디칼 소거 활성, 미오글로빈 보호 효과, FRAP를 추출 농도별(1, 2, 10, 20 mg/mL)로 측정하였다. 부위별 총페놀 함량의 경우 뿌리(2.468 mg), 잎(2.307 mg), 줄기(2.277 mg) 순으로 함량이 높았으며, 총플라보노이드 함량은 뿌리(2.071 mg), 잎(1.875 mg), 줄기(0.616 mg)로 순으로 측정되었다. DPPH 라디칼 소거 활성, 미오글로빈 보호 효과 그리고 FRAP 실험에서는 농도 의존적으로 항산화 활성을 보였으며 플라보노이드 및 페놀성 화합물의 함량이 적은 줄기에 비하여 잎과 뿌리의 추출물의 활성이 좋았고 ABTS 라디칼 소거 활성의 경우 뿌리 추출물의 활성이 가장 높았다. 이는 총페놀 함량과 총플라보노이드의 함량이 항산화 활성에 상관관계가 있음을 확인할 수 있었다. 삼지구엽초는 주로 잎 부분이 식용으로 쓰이고 있으며 최근 지상부만을 제한적으로 식품원료로 허용하고 있는데 본 연구를 통하여 지상부 외에 지하부에서도 항산화 활성이 높은 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처의 연구개발비(14162볼량식971)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Bae SJ. 2003. The antimicrobial activities of waste food fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 825-828.
- Han EK, Jung EJ, Lee JY, Jin YX, Chung CK. 2011. Antioxidative activity of ethanol extracts from different parts of *Taraxacum officinale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 56-62.
- Lee JH, Jhoo JW. 2012. Antioxidant activity of different parts of *Lespedeza bicolor* and isolation of antioxidant compound. *Korean J Food Sci Technol* 44: 763-771.
- Kim SJ, Shin JY, Park YM, Chung KM, Lee JH, Kweon DH. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Korean J Food Sci Technol* 38: 241-248.
- Woo NRY, Kim TS, Park HW, Park CG, Seong HJ, Ko SB, Jung JW, Kang MH. 2005. Comparison of antioxidative activities of *Crotalaria sessiflora* L. extracts from leaves, seed, stem and root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1297-1301.
- Yun JW, Yoo MY, Park BK, Lee MK, Oh DH. 2004. Antimicrobial effect of ethanol extracts of *Quercus* spp. against foodborne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 463-468.

7. Kang HI, Kim JY, Kwon SJ, Park KW, Kang JS, Seo KI. 2010. Antioxidative effects of peanut sprout extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 941-946.
8. Joung YM, Park SJ, Lee KY, Lee JY, Suh JK, Hwang SY, Park KE, Kang MH. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. *Korean J Food Sci Technol* 39: 452-457.
9. Hwang SJ, Park SJ, Kim JD. 2013. Component analysis and antioxidant activity of *Oenanthe javanica* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 45: 227-234.
10. Kim GH, Choi MH. 1999. Antioxidant activity of flavonoids in plant origin food. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 121-135.
11. Ryu MJ, Lee SY, Chung HS. 2013. Effect of *Epimedium koreanum* Nakai on human breast cancer cell line. *J Korean Tea Soc* 19: 63-67.
12. Kim SJ, Park MS, Ding T, Wang J, Oh DH. 2011. Biological activities of isolated icariin from *Epimedium koreanum* Nakai. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1397-1403.
13. Kang HK, Choi YH, Kwon H, Lee SB, Kim DH, Sung CK, Park YI, Dong MS. 2012. Estrogenic/antiestrogenic activities of a *Epimedium koreanum* extract and its major components: *in vitro* and *in vivo* studies. *Food Chem Toxicol* 50: 2751-2759.
14. Islam MN, Kim U, Kim DH, Dong MS, Yoo HH. 2012. High-performance liquid chromatography-based multivariate analysis to predict the estrogenic activity of an *Epimedium koreanum* extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 76: 923-927.
15. Lee TS, Cho JH, Hwang BH. 2005. Extractives from *Epimedium koreanum* Nakai. *J Kor For En* 24: 16-23.
16. Zhang ZB, Yang QT. 2006. The testosterone mimetic properties of icariin. *Asian J Androl* 8: 601-605.
17. Guo J, Li F, Wu Q, Gong Q, Lu Y, Shi J. 2010. Protective effects of icariin on brain dysfunction induced by lipopolysaccharide in rats. *Phytomedicine* 17: 950-955.
18. Makarova MN, Pozharitskaya ON, Shikov AN, Tesakova SV, Makarov VG, Tikhonov VP. 2007. Effect of lipid-based suspension of *Epimedium koreanum* Nakai extract on sexual behavior in rats. *J Ethnopharmacol* 114: 412-416.
19. Li S, Dong P, Wang J, Zhang J, Gu J, Wu X, Wu W, Fei X, Zhang Z, Wang Y, Quan Z, Liu Y. 2010. Icariin, a natural flavonol glycoside, induces apoptosis in human hepatoma SMMC-7721 cells via a ROS/JNK-dependent mitochondrial pathway. *Cancer Lett* 298: 222-230.
20. Park MS, Kim SJ, Wang J, Kim GH, Oh DH. 2012. Immunological activity of solvent fractions from *Epimedium koreanum* Nakai. *Korean J Food Preserv* 19: 110-115.
21. Ramos A, Visozo A, Piloto J, Garcia A, Rodriguez CA, Rivero R. 2003. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 87: 241-246.
22. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
23. Terashima M, Watanabe R, Ueki M, Matsumura S. 2010. Comprehensive evaluation of antioxidant activity for various substances with 5-axis cobweb chart. *Food Chem* 120: 150-155.
24. Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
25. Kim EJ, Choi JY, Yu M, Kim MY, Lee S, Lee BH. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44: 337-342.
26. Hwang JS, Lee BH, An X, Jeong HR, Kim YE, Lee I, Lee H, Kim DO. 2015. Total phenolics, total flavonoids, and antioxidant capacity in the leaves, bulbs, and roots of *Allium hookeri*. *Korean J Food Sci Technol* 47: 261-266.
27. Cushnie TP, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 26: 343-356.
28. Zhao HY, Sun JH, Fan MX, Fan L, Zhou L, Li Z, Han J, Wang BR, Guo DA. 2008. Analysis of phenolic compounds in *Epimedium* plants using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1190: 157-181.
29. Choi JM, Ahn JB. 2012. Functional properties of 50% methanol extracts from different parts of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Korean J Food Sci Technol* 44: 373-377.
30. Park BJ. 2008. Isolation of main component and antioxidant activities on the stem and root of *Rosa rugosa*. *Korean J Plant Res* 21: 402-407.
31. Yang YR, Park YK. 2011. Comparison of antioxidant activities of black onion extracts. *Korean J Food Preserv* 18: 954-960.
32. Noh JE, Yoon SR, Lim AK, Kim HJ, Huh D, Kim DI. 2012. A study on the yield of functional components of citrus peel extracts using optimized hot water extraction and enzymatic hydrolysis. *Korean J Food Cookery Sci* 28: 51-55.
33. Chung HJ. 2010. Antioxidant activities of different part extracts of *Physalis alkekengi* var. *francheti* (winter cherry). *Korean J Food Preserv* 17: 867-873.
34. Seo SJ, Shim KB, Kim NW. 2011. Antioxidative effects of solvent fractions from *Nandina domestica* fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1371-1377.
35. Woo JH, Shin SL, Chang YD, Lee CH. 2009. Screening for antioxidant effects of aerial part extracts obtained from sixteen compositae species. *Flower Res J* 17: 271-278.
36. Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53: 4290-4302.
37. Kwak JH, Choi GN, Park JH, Kim JH, Jeong HR, Jeong CH, Heo HJ. 2010. Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. *J Agric Life Sci* 44: 57-66.
38. Terashima M, Nakatani I, Harima A, Nakamura S, Shiiba M. 2007. New method to evaluate water-soluble antioxidant activity based on protein structural change. *J Agric Food Chem* 55: 165-169.
39. Terashima M, Kakuno Y, Kitano N, Matsuoka C, Murase M, Togo N, Watanabe R, Matsumura S. 2012. Antioxidant activity of flavonoids evaluated with myoglobin method. *Plant Cell Rep* 31: 291-298.
40. An S, Park HS, Kim GH. 2014. Evaluation of the antioxidant activity of cooked *gomchwi* (*Ligularia fischeri*) using the myoglobin methods. *Prev Nutr Food Sci* 19: 34-39.
41. Mok JY, Kang HJ, Cho JK, Jeon IH, Kim HS, Park JM, Jeong SI, Shim JS, Jang SI. 2011. Antioxidative and anti-inflammatory effects of extracts from different organs of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*. *Kor J Herbology* 26: 39-47.
42. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.